

RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE

Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte

Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas institūts

Jana Vecstaudža

Doktora studiju programmas “Materiālzinātne” doktorante

AMORFA KALCIJA FOSFĀTA BIOMATERIĀLI AR LIELU ĪPATNĒJO VIRSMAS LAUKUMU

Promocijas darba kopsavilkums

Zinātniskais vadītājs
profesors *Dr. sc. ing.*
JĀNIS LOČS

RTU Izdevniecība
Rīga 2021

Vecstaudža, J. Amorfa kalcija fosfāta biomateriāli ar lielu īpatnējo virsmas laukumu. Promocijas darba kopsavilkums. Rīga: RTU Izdevniecība, 2021. 23 lpp.

Iespiests saskaņā ar Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas institūta 2019. gada 3. jūnija lēmumu, protokols Nr. 3-18/19.

Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu projektā “Atbalsts RTU doktora studiju īstenošanai”.



<https://doi.org/10.7250/9789934226359>

ISBN 978-9934-22-635-9 (pdf)

PROMOCIJAS DARBS IZVIRZĪTS ZINĀTNES DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI RĪGAS TEHNISKAJĀ UNIVERSITĀTĒ

Promocijas darbs zinātnes doktora (*Ph. D.*) grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts 2021. gada 21. jūnijā plkst. 15.00 Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātē, Paula Valdena ielā 3/7, 272. auditorijā.

OFICIĀLIE RECENZENTI

Vadošais pētnieks *Dr. habil. sc. ing.* Jānis Grabis,
Rīgas Tehniskā universitāte, Latvija

Asociētā profesore *Dr. med.* Laura Neimane,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Profesore *Ph. D. Christèle Combes*,
Institut National Polytechnique de Toulouse, CIRIMAT, Francija

APSTIPRINĀJUMS

Apstiprinu, ka esmu izstrādājusi šo promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē zinātnes doktora (*Ph. D.*) grāda iegūšanai. Promocijas darbs zinātniskā grāda iegūšanai nav iesniegts nevienā citā universitātē.

Jana Vecstaudža (paraksts)

Datums:

Promocijas darbs sagatavots kā tematiski vienota zinātnisko publikāciju kopa. Tajā ir kopsavilkums latviešu un angļu valodā un četras *SCI* publikācijas. Publikācijas uzrakstītas angļu valodā, to kopējais apjoms, ieskaitot elektroniski pieejamo informāciju, ir 34 lpp.

SATURS

PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS.....	5
Ievads.....	5
Mērķis un darba uzdevumi	6
Aizstāvamās tēzes.....	6
Zinātniskā novitāte	6
Praktiskā nozīme	6
Darba struktūra un apjoms.....	7
Publikācijas un darba aprobācija	7
PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI.....	10
Reaģentu Ca/P molārās attiecības un sintēzes temperatūras ietekme uz <i>ACP</i> īpašībām.....	10
Sintēzes metodes izstrāde <i>ACP</i> ar lielu īpatnējo virsmas laukumu iegūšanai.....	12
Ar dažādām metodēm žāvētu <i>ACP</i> materiālu termiskās īpašības	15
<i>ACP</i> sablīvēšana, izmantojot aukstās saķepināšanas procesa principus.....	18
SECINĀJUMI	22
ATSAUCES	23

PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS

Ievads

Pasaulē nemitīgi pieaug tādu pacientu skaits, kas saskārušies ar kaulu slimībām, patoloģijām un muskuloskeletālās sistēmas traumām [1], tāpēc kaulu ārstēšanai un aizvietošanai ir nepieciešami efektīvi biomateriāli. Šādu biomateriālu sastāvam un struktūrai jāatdarina dabīgā kaula īpašības. Kaula unikālā ķīmiskā sastāva un struktūras dēļ to joprojām nav izdevies mākslīgi atdarināt tā, lai izgatavotā biomateriāla īpašības būtu salīdzināmas ar kaulu [2]. Kauls sastāv no neorganiskām (75 masas %, tai skaitā 10 masas % ūdens) un organiskām (25 masas %) sastāvdaļām [3]. Kaula neorganiskā daļa sastāv no nanoizmēra kalcija fosfāta daļiņām, kas izvietotas organiska sastāva matricā. Zināms, ka kalcija fosfātiem ir ļoti augsta biosaderība ar cilvēka audiem un ķermeņa vidi [4]. Tāpēc kalcija fosfāti ir perspektīvi kaula neorganiskās daļas aizvietotāji, ko ir iespējams sintezēt laboratorijas apstākļos un izmantot jaunu un efektīvu biomateriālu izstrādē.

Tomēr kaulu reģenerācijas jomā nemainīgs “zelta” standartmateriāls ir autografts jeb pacienta kaulaudi. Cita populāra izvēle ir ksenografts, piemēram, komerciāli pieejamie deproteinizēta liellopu kaula minerāla materiāli, kā izmantošana novērš ar autografta lietošanu izraisītos trūkumus (vairākas operāciju vietas, sāpes, papildzināta darba nespēja u. c.) [5]. Deproteinizēta liellopu kaula minerāla materiālu labā veiktspēja saistīta ar to mikro un nano struktūrām un to lielo īpatnējo virsmas laukumu (līdz $88 \text{ m}^2/\text{g}$ [6]), kura vērtība ir tuva cilvēka kaulā esošo kalcija fosfāta daļiņu īpatnējā virsmas laukuma vērtībai ($40\text{--}240 \text{ m}^2/\text{g}$ [7]). Tīkmēr komerciāli pieejamo kalcija fosfātu biomateriālu īpatnējais virsmas laukums ir ievērojami mazāks (līdz $3 \text{ m}^2/\text{g}$ [8]). Liels īpatnējais virsmas laukums ir būtisks bioaktīvu molekulu (piemēram, proteīnu un citokīnu) adsorbcijai uz biomateriāla virsmas [9], kas veicina materiāla integrāciju ķermenī un audu reģenerāciju. Sintētiskie kalcija fosfāti ir ar augstu tīrību, pieejami lielos apjomos, ar atkārtojamu sastāvu, un tie nav dzīvnieku izcelsmes. Līdz ar to zinātniskā sabiedrība padziļināti pēta kalcija fosfātus – to sintēzi, fizikālķīmiskās īpašības, apstrādi, kā arī veic *in vitro*, *in vivo* un klīniskos pētījumus.

Amorfais kalcija fosfāts ir pirmā neorganiskā fāze, kas rodas, veidojoties jaunam kaulam [10]. Amorfo kalcija fosfātu uzskata arī par pirmo vai starpprodukta fāzi citu kalcija fosfātu, piemēram, hidroksilapatīta, veidošanās procesā. Līdz šim amorfa kalcija fosfāts ir salīdzinoši maz izmantots kā biomateriāls, kas skaidrojams ar tā metastabilitāti. Laika un dažādu faktoru ietekmē amorfa kalcija fosfāts kristalizējas citās kalcija fosfātu fāzēs [11]. Šajā promocijas darbā parādīts, ka iespējams iegūt stabilu amorfo kalcija fosfātu, tādējādi ievērojami paplašinot tā izmantošanas iespējas biomateriālu pētniecībā.

Promocijas darbā ir izstrādāta jauna sintēzes metode stabila amorfa kalcija fosfāta ar lielu īpatnējo virsmas laukumu ($\geq 100 \text{ m}^2/\text{g}$) iegūšanai, kā arī raksturotas iegūto materiālu fizikālķīmiskās īpašības. Pētīta amorfa kalcija fosfāta kristalizācija atkarībā no sintēzes tehnoloģiskajiem parametriem un risinājumiem (sintēzes pH un žāvēšanas metode). Amorfa kalcija fosfāts veiksmīgi saķepināts blīvā biokeramikā, izmantojot aukstās saķepināšanas procesa principus, tādējādi saglabājot tā amorfo struktūru.

Mērķis un darba uzdevumi

Promocijas darba mērķis ir izstrādāt sintēzes tehnoloģiju stabila amorfā kalcija fosfāta ar lielu īpatnējo virsmas laukumu iegūšanai un pētīt tā veidošanos, kristalizāciju un saķepināšanu.

Mērķa sasniegšanai definēti vairāki darba uzdevumi.

1. Pētīt sintēzes temperatūras un reaģentu Ca/P molārās attiecības ietekmi uz ar dubultās sāļu sadalīšanas metodi iegūta amorfa kalcija fosfāta īpatnējo virsmas laukumu.
2. Izstrādāt sintēzes metodi amorfa kalcija fosfāta ar paaugstinātu īpatnējo virsmas laukumu ($\geq 100 \text{ m}^2/\text{g}$) iegūšanai.
3. Pētīt žāvēšanas paņēmiena (liofilizēšana vai žāvēšana 80°C temperatūrā) ietekmi uz amorfa kalcija fosfāta struktūru un kristalizāciju.
4. Pētīt amorfa kalcija fosfāta ilgtermiņa stabilitāti istabas temperatūrā.
5. Pētīt amorfa kalcija fosfāta saķepināšanu, izmantojot aukstās saķepināšanas procesa principus.

Aizstāvamās tēzes

1. Strauji paaugstinot gan kalcija, gan fosfātu jonus saturoša šķīduma pH līdz 10–11, tiek nodrošināta amorfa kalcija fosfāta ar lielu īpatnējo virsmas laukumu ($\geq 100 \text{ m}^2/\text{g}$) nogulsnešanās.
2. Pie pH = 10–11 nogulsnēta amorfa kalcija fosfāta Ca/P molārā attiecība, kas lielāka par 1,5, nodrošina tā ilgtermiņa stabilitāti istabas temperatūrā.

Zinātniskā novitāte

Demonstrēta jauna, vienkārša un rentabla sintēzes metode ilgtermiņā stabila amorfa kalcija fosfāta ar lielu īpatnējo virsmas laukumu iegūšanai un aprakstītas iegūstamo produktu fizikālķīmiskās īpašības.

Praktiskā nozīme

Iegūts un pētīts ilgtermiņā stabils amorfais kalcija fosfāts, kura praktiskais lietojums rasts nanostrukturētu granulu izstrādē¹:

- 1) ar stroncija joniem osteohondrālo implantu veikspējas uzlabošanai²;
- 2) ar biomimētisku ķīmisko sastāvu, kas nodrošinās biomimētiska kalcija fosfāta biosintēzi pēc implantācijas *in vivo*³.

¹ RTU un RSU sadarbības projekts “Nanostrukturētu kaulu aizvietojošu materiālu izveide un imunoloģisko aspektu izpēte kaulaudu reģenerācijā”, 2016.–2019. g.

² EuroNanoMed III projekts “Nanostrukturēta osteohondrāla pamatne: jauni biomimētiski aktivatori uzlabotai kaulu reģenerācijai, NANO-SCORES”, 2018.–2021. g.

³ Latvijas Zinātņu padomes fundamentālo un lietišķo pētījumu projekts Nr. Izp-2018/1-0238 “Biomimētiska hidroksilapatīta biosintēze *in vivo* – sintētisko kaulus aizvietojošo materiālu nākotne”, 2018.–2021. g.

Darba struktūra un apjoms

Promocijas darbs ir tematiski vienota četru SCI publikāciju kopa ar kopsavilkumu latviešu un angļu valodā. Publikācijas ir uzrakstītas angļu valodā, to kopējais apjoms, ieskaitot elektroniski pieejamo informāciju, ir 34 lappuses.

Publikācijas un darba aprobācija

Promocijas darba rezultāti ir publicēti četrās SCI zinātniskajās publikācijās

1. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Effect of synthesis temperature and Ca/P ratios on specific surface area of amorphous calcium phosphate, *Key Engineering Materials*, 721, 2016, 172.–176. lpp. doi: 10.4028/www.scientific.net/KEM.721.172 (*Scopus*).
2. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Novel preparation route of stable amorphous calcium phosphate nanoparticles with high specific surface area, *Journal of Alloys and Compounds*, 700, 2017, 215.–222. lpp. doi: 10.1016/j.jallcom.2017.01.038 (*Scopus*).
3. **Vecstaudza, J.**, Gasik, M., Locs, J. Amorphous calcium phosphate materials: formation, structure and thermal behaviour, *Journal of the European Ceramic Society*, 39, 2019, 1642.–1649. lpp. doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2018.11.003 (*Scopus*, brīvpieejas publikācija).
4. Rubenis, K., Zemjane, S., **Vecstaudza, J.**, Bitenieks, J., Locs, J. Densification of amorphous calcium phosphate using principles of the cold sintering process, *Journal of the European Ceramic Society*, 41, 2021, 912.–919. lpp. doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2020.08.074 (*Scopus*, brīvpieejas publikācija).

Promocijas darba rezultāti ir prezentēti 18 zinātniskajās konferencēs

1. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Synthesis and characterization of amorphous calcium phosphate with biomimetic bone-like composition. *11th World Biomaterials Congress*, tiešsaiste, 11.–15. decembris, 2020 (stenda referāts).
2. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Amorphous calcium phosphate biomaterials for bone regeneration. *60th International Scientific Conference of RTU: Materials Science and Applied Chemistry*, Latvija, Rīga, 24. oktobris, 2019 (mutiskā prezentācija).
3. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Synthesis of amorphous calcium phosphate with biomimetic chemical composition. *30th Annual Conference of the European Society for Biomaterials*, Vācija, Drēzdene, 9.–13. septembris, 2019 (stenda referāts).
4. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Thermally treated carbonated amorphous calcium phosphate. *30th Annual Conference of the European Society for Biomaterials*, Vācija, Drēzdene, 9.–13. septembris, 2019 (stenda referāts).
5. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Biomimetic amorphous calcium phosphate. *XVI Conference of the European Ceramic Society*, Itālija, Turīna, 16.–20. jūnijs, 2019 (stenda referāts).
6. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Development of synthesis of amorphous calcium phosphate with biomimetic chemical composition. *Scandinavian Society for Biomaterials 2019 conference*, Somija, Kirkkonummi, 12.–14. jūnijs, 2019 (stenda referāts).

7. Makarova, E., **Vecstaudza, J.**, Vilskersts, R., Kupats, R., Kuka, J., Loca, D., Locs, J., Dambrova, M. Assessment of Biocompatibility and Osteoinductive Potential of Amorphous Calcium Phosphate in Mice: Experimental Model. *Rīga Stradiņš University International Conference on Medical and Health Care Sciences: Knowledge for Use in Practice*, Latvija, Rīga, 1.–3. aprīlis, 2019 (stenda referāts).
8. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Reduction of specific surface area of amorphous calcium phosphate during gradual heat treatments. *29th European Conference on Biomaterials ESB 2018*, Nīderlande, Māstrihta, 9.–13. septembris, 2018 (stenda referāts).
9. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Decrease of specific surface area of amorphous calcium phosphate during gradual heat treatments. *29th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine Bioceramics 29*. Francija, Tulūza, 25.–27. oktobris, 2017, 138. lpp. (stenda referāts).
10. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Impact of heat treatment on specific surface area of amorphous calcium phosphate. *58th International Scientific Conference of Riga Technical University*, Rīga, Latvija, 20. oktobris, 2017 (**labākais stenda referāts**).
11. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Calcium phosphate scaffolds with high specific surface area towards improved cell response in vitro. *eCM Meeting Abstracts 2017, Collection 2; TERMIS EU*, Šveice, Davosa, 26.–30. jūnijs, 2017, P809 (stenda referāts).
12. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Calcium phosphates with high specific surface area towards improved cell response *in vitro*, *10th annual meeting for Scandinavian Society for Biomaterials*, Norvēģija, Hafjella, 15.–17. marts, 2017 (stenda referāts).
13. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Novel preparation route of stable amorphous calcium phosphate nanoparticles with high specific surface area, *33rd Scientific Conference of the Institute of Solid State Physics*, Latvija, Rīga, 22.–24. februāris, 2017 (stenda referāts).
14. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Effect of synthesis temperature and Ca/P ratios on specific surface area of amorphous calcium phosphate. *25th International Baltic Conference Baltattrib 2016*, Latvija, Rīga, 3.–4. novembris, 2016 (stenda referāts).
15. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Amorphous and low crystalline calcium phosphates for bone tissue regeneration, *57th International Scientific Conference of Riga Technical University*, Latvija, Rīga, 21. oktobris, 2016 (mutiskā prezentācija).
16. **Vecstaudza, J.**, Gasik, M., Locs, J. New biomimetic amorphous calcium phosphate biomaterials: structure and thermal properties. *The 2016 E-MRS Fall Meeting and Exhibition*, Polija, Varšava, 19.–22. septembris, 2016 (mutiskā prezentācija).
17. **Vecstaudza, J.**, Locs, J., Gasik, M. Biomimetic calcium phosphate nanoparticles with variable degree of crystallinity. *6th International congress on ceramics*, Vācija, Drēzdene, 21.–25. augusts, 2016 (stenda referāts).
18. **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Rapid reprecipitation of nanosized calcium phosphates. *24th International Conference Baltattrib 2015*. Igaunija, Tallina, 5.–6. novembris, 2015 (stenda referāts).

Dalība citās zinātniskajās konferencēs promocijas darba izstrādes laikā

1. Putnins, A., **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Obtaining and characterization of C-shaped calcium phosphate granules for biomedical application. *9th International Granulation Workshop*, Šveice, Lozanna, 26.–28. jūnijs, 2019, 194. lpp. (stenda referāts).
2. Putnins, A., **Vecstaudza, J.**, Locs, J. Development of designed shape calcium phosphate granules. *9th International Granulation Workshop*, Šveice, Lozanna, 26.–28. jūnijs, 2019, 193. lpp. (stenda referāts).
3. Stīpniece, L., **Vecstaudža, J.**, Zālīte, V., Šalma-Ancāne, K., Loča, D., Bērziņa-Cimdiņa, L. Optimization of the Synthesis and Design of Calcium Phosphates for Biomedical Applications. *32nd Scientific Conference of the Institute of Solid State Physics*, Latvija, Rīga, 17.–19. februāris, 2016, 136. lpp. (stenda referāts).

Citas zinātniskās publikācijas, kas publicētas promocijas darba izstrādes laikā

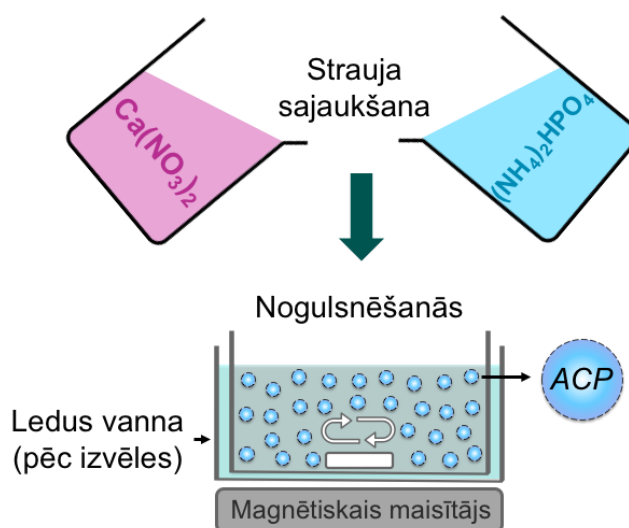
1. Choudhary, R., Venkatraman, S. K., Chatterjee, A., **Vecstaudza, J.**, Yáñez-Gascón, M. J., Pérez-Sánchez, H., Locs, J., Abraham, J., Swamiappan, S. Biomineralization, antibacterial activity and mechanical properties of biowaste derived diopside nanopowders (2019) *Advanced Powder Technology*, 30 (9), 1950.–1964. lpp. doi: 10.1016/j.appt.2019.06.014 (Scopus).
2. Loca, D., Smirnova, A., Locs, J., Dubnika, A., **Vecstaudza, J.**, Stipniece, L., Makarova, E., Dambrova, M. Development of local strontium ranelate delivery systems and long term *in vitro* drug release studies in osteogenic medium (2018) *Scientific Reports*, 8 (1), Nr. 16754. doi: 10.1038/s41598-018-35197-7 (Scopus, brīvpieejas publikācija).
3. Choudhary, R., Manohar, P., **Vecstaudza, J.**, Yáñez-Gascón, M. J., Sánchez, H. P., Nachimuthu, R., Locs, J., Swamiappan, S. Preparation of nanocrystalline forsterite by combustion of different fuels and their comparative in-vitro bioactivity, dissolution behaviour and antibacterial studies (2017) *Materials Science and Engineering C*, 77, 811.–822. lpp. doi: 10.1016/j.msec.2017.03.308 (Scopus).
4. Stunda-Zujeva, A., **Vecstaudža, J.**, Krieķe, G., Bērziņa-Cimdiņa, L. Glass Formation and Crystallization in P_2O_5 - Nb_2O_5 -CaO- Na_2O System. *Materials Sciences and Applied Chemistry*, 2017, 34, 21.–28. lpp. doi: 10.1515/msac-2017-0003.
5. Choudhary, R., **Vecstaudza, J.**, Krishnamurthy, G., Raghavendran, H. R. B., Murali, M. R., Kamarul, T., Sasikumar, S., Locs, J. *In-vitro* bioactivity, biocompatibility and dissolution studies of diopside prepared from biowaste by using sol-gel combustion method (2016) *Materials Science and Engineering C*, 68, 89.–100. lpp. doi: 10.1016/j.msec.2016.04.110 (Scopus).

PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI

Reāģentu Ca/P molārās attiecības un sintēzes temperatūras ietekme uz ACP īpašībām

Analizējot zinātnisko literatūru konstatēts, ka amorfā kalcija fosfāta (ACP) sintēzes tehnoloģijas varētu modificēt tā, lai iegūtu produktu ar lielu īpatnējo virsmas laukumu ($\geq 100 \text{ m}^2/\text{g}$). Pēc turpmākas kalcija fosfātu (CaP) sintēžu protokolu analīzes identificēti divi sintēzes tehnoloģiskie parametri – reāģentu Ca/P molārā attiecība un sintēzes temperatūra, kas varētu ietekmēt ACP sintēzes produkta SSA. Visbiežāk ACP iegūst, izmantojot nogulsnešanas metodi, piemēram, dubultās sāļu sadalīšanas metodi. Iepriekšminētajā metodē izmanto kalcija jonu un fosfātjonu saturošus ūdenī šķīstošu sāļu šķīdumus; abus šķīdumus sajauc vienā pie bāziska pH, tādā veidā nodrošinot ACP nogulsnešanos. Šādā sintēzē var izmantot dažādus kalcija jonus un fosfātjonus saturošus sāļus, piemēram, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ un $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ un $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ un K_2HPO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ un Na_2HPO_4 u. c.

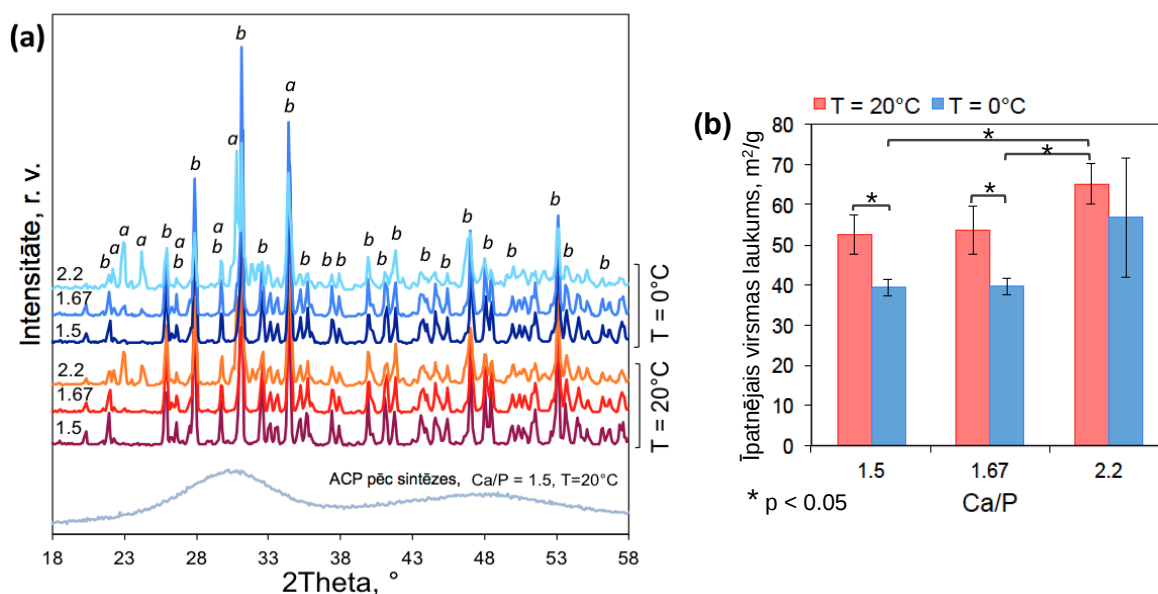
Promocijas darbā ACP paraugi sintezēti ar dubultās sāļu sadalīšanas metodi, izmantojot $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ un $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (sāļi iegūti no *Sigma Aldrich*). Abu sāļu šķīdumi strauji salieti kopā un maisīti ar magnētisko maisītāju (1. att.). $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ šķīduma koncentrācija visos eksperimentos bija 0,45 M. Lai noskaidrotu, vai, izmantojot dubultās sāļu sadalīšanas metodi, iespējams iegūt ACP ar paaugstinātu SSA, pārbaudīta šādu sintēzes tehnoloģisko parametru ietekme: 1) reāģentu Ca/P molārā attiecība (1,5; 1,67; 2,2); 2) sintēzes temperatūra (0 °C un 20 °C).



1. att. Vispārīga ACP sintēzes shēma, izmantojot dubultās sāļu sadalīšanas metodi.

Sintezēto un termiski apstrādāto (1100 °C, 1 h) ACP paraugu fāžu sastāvs pētīts, izmantojot rentgenstaru difraktometru *X'Pert Pro* (*PAnalytical*, Nīderlande). Kristālisko fāžu identifikācija veikta, izmantojot Starptautiskā Difrakcijas datu centra (*ICDD*) *PDF-2* datubāzi. Sintezēto paraugu īpatnējais virsmas laukums SSA (saīsinājums no angļu val.) noteikts ar Brunauera–Emmeta–Telleru (BET) metodi un *Quadrasorb SI* (*Quantachrome*, ASV) iekārtu.

Neatkarīgi no izvēlētās reaģentu Ca/P molārās attiecības (1,5; 1,67; 2,2) un sintēzes temperatūras (0 °C vai 20 °C) visu sintēžu produkti bija rentgenamorfī (2. a. att.). Termiski apstrādājot iegūtos ACP paraugus, to rentgenstaru difrakcijas (XRD) ainās identificēta β -trikalcija fosfāta (β -TCP, β -Ca₃(PO₄)₂) fāze vai β -TCP un α -trikalcija fosfāta (α -TCP, α -Ca₃(PO₄)₂) fāžu maisījums. Paraugos, kuros pēc termiskās apstrādes izveidojies α -TCP un β -TCP maisījums, dominējošā fāze bija β -TCP. Secināts, ka visu ACP paraugu Ca/P molārā attiecība bija 1,5 neatkarīgi no reaģentu Ca/P molārās attiecības un sintēzes temperatūras.



2. att. XRD ainās (a) sintezētam un termiski apstrādātam (1100 °C, 1 h) ACP, kur *a* – α -TCP, *b* – β -TCP; (b) īpatnējais virsmas laukums ACP paraugiem kā funkcija no sintēzes temperatūras un reaģentu Ca/P molārās attiecības [12].

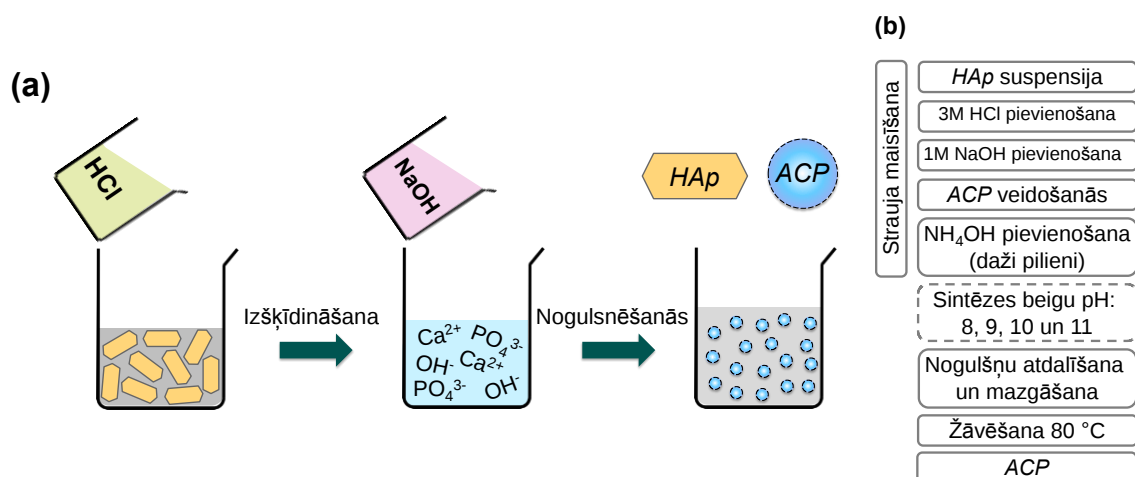
Reaģentu Ca/P molārās attiecības un sintēzes temperatūras ietekme uz ACP paraugu SSA atainota 2. b att. Gan reaģentu Ca/P molārā attiecība, gan sintēzes temperatūra ietekmē ACP, kas iegūts ar dubultās sāļu sadalīšanas metodi, SSA. Lielāka Ca/P molārā attiecība sintēzes vidē nodrošināja ACP veidošanos ar lielāku vidējo SSA vērtību gan 0 °C, gan 20 °C temperatūrā. ACP SSA palielinājās no (53 ± 5) m²/g līdz (65 ± 5) m²/g 20 °C temperatūrā un no (39 ± 2) m²/g līdz (57 ± 15) m²/g 0 °C temperatūrā, ja reaģentu Ca/P molāro attiecību variēja robežās no 1,5 līdz 2,2. Visu iegūto paraugu Ca/P molārā attiecība bija 1,5, un tas norādīja uz to, ka kalcija jonu pārākums sintēzes vidē ir veicinājis CaP daļiņu ar lielāku SSA veidošanos. Augstākā iegūtā SSA vērtība ACP paraugam, kas sintezēts ar reaģentu Ca/P molāro attiecību 2,2 20 °C temperatūrā, sasniedza 65 m²/g, kas arī nesasniedza paredzēto 100 m²/g vērtību. Tādēļ nolemts pētīt un modificēt citas ACP sintēzes metodes, lai iegūtu produktu ar paredzēto SSA vērtību.

Iegūto rezultātu **novitāte** ir šāda: 1) ACP sintēze, izmantojot dubultās sāļu sadalīšanas metodi bez stabilizējošiem aģentiem zemākā temperatūrā (0 °C) nekā iepriekš ziņots literatūrā; 2) reaģentu Ca/P molārās attiecības ietekmes novērtējums uz ACP SSA. Turklāt zinātniskajā literatūrā tika identificēts sistemātisku pētījumu trūkums par CaP, it īpaši ACP, SSA, līdz ar to šis promocijas darbs papildina kopējo zināšanu bāzi.

Sintēzes metodes izstrāde ACP ar lielu īpatnējo virsmas laukumu iegūšanai

Sintezējot ACP ar dubultās sāļu sadalīšanas metodi, **divi šķīdumi** tiek sajaukti **vienā**, tāpēc tika izvirzīta hipotēze, ka **vienā** kalcija jonus un fosfātu jonu saturoša šķīduma izmantošana ir efektīva pieeja CaP ar paaugstinātu SSA iegūšanai. Pateicoties sākotnējai kalcija jonu un fosfātu jonu homogenitātei, notiktu viendabīgu daļiņu nogulsnešanās un augšana, līdz ar to tiktu iegūts CaP ar paaugstinātu SSA. Līdzīgu hipotēzi par homogenizētu izejvielu šķīdumu piedāvāja E. D. Eanes un E. L. Meyer [13], kur bāzisks KOH šķīdums tika strauji pievienots paskābinātam kalcija jonu un fosfātu jonu sāļu šķīdumam, izraisot CaP nogulsnešanos.

Šajā promocijas darbā izstrādātajai sintēzes metodei, lai iegūtu ACP ar lielu SSA, ir divi etapi: 1) homogēna šķīduma, kas satur gan kalcija, gan fosfāta jonus, iegūšanas, izšķīdinot hidroksilapatītu sālsskābē; 2) straujas stipras bāzes pievienošanas kalcija un fosfāta jonu saturošajam šķīdumam un pH paaugstināšanas (3. att.). Otrā etapa laikā norisinās ACP nogulsnešanās.



3. att. ACP sintēzes galvenie etapi (a) un detalizēta sintēzes gaita (b). Autores attēli.
Sintēzes shēma balstīta uz J. Vecstaudza un J. Locs [14] attēlu.

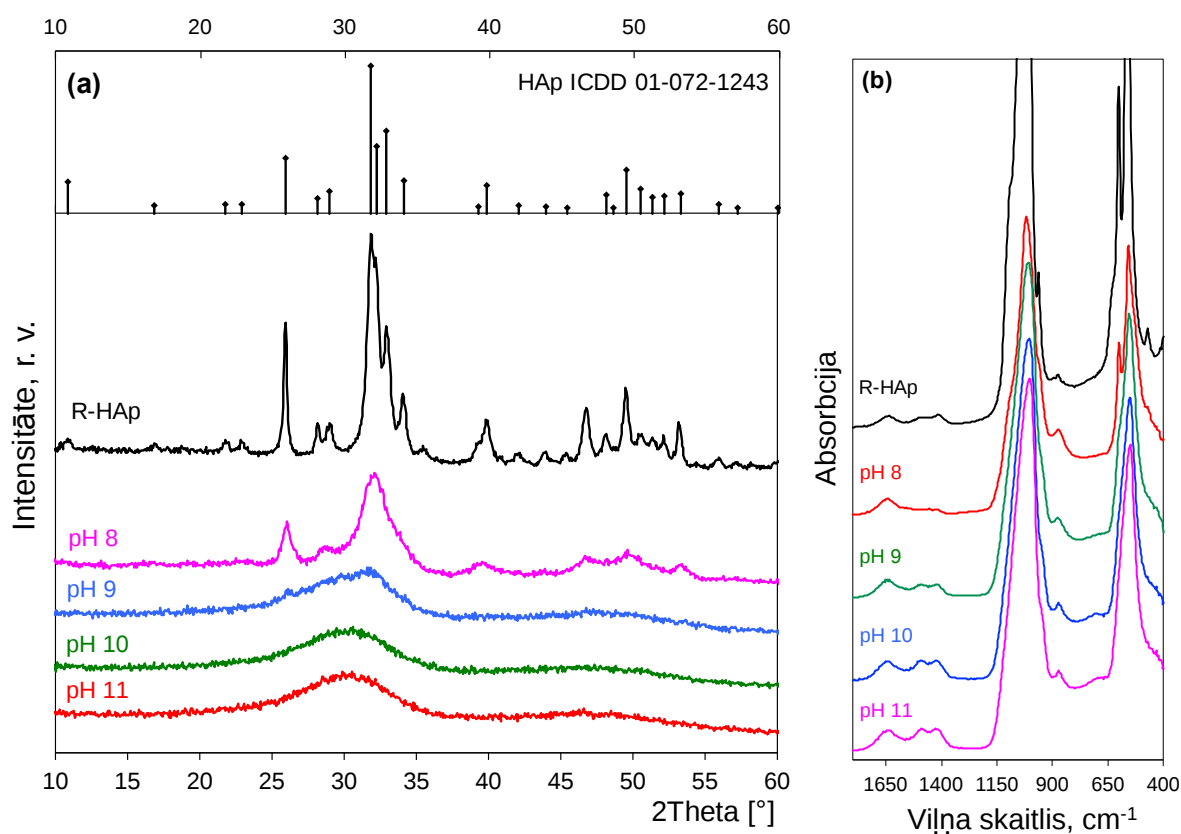
Zināms, ka sintēzes vides pH piemīt nozīmīga ietekme uz ar nogulsnešanās metodēm iegūtu CaP fāžu sastāvu. Tāpēc pētīta sintēzes beigu pH vērtības (8, 9, 10 un 11) ietekme uz ar izstrādāto metodi nogulsnēto produktu fāžu sastāvu, ķīmisko struktūru un SSA. Sintēzēs iegūtie materiāli raksturoti, izmantojot XRD (*X'Pert Pro*, *PA analytical*, Nīderlande), Furjē transformāciju infrasarkanās spektrometrijas (*FT-IR*, *Scimitar 800*, *Varian Inc.*, ASV) un BET (*Quadrasorb SI*, *Quantachrome*, ASV) metodes. Sintezēto materiālu ilgtermiņa stabilitāte tika pētīta, izmantojot XRD. Kristāliskās fāzes tika identificētas, izmantojot *ICDD PDF-2* datubāzi; fāžu kvantitatīvo sastāvs tika noteikts ar Rietvelda metodi. Paraugu Ca/P molārā attiecība tika aprēķināta, balstoties uz kvantitatīvās fāžu analīzes datiem. Vidējo daļiņu diametrs d_{BET} tika aprēķināts saskaņā ar 1. vienādojumu, pieņemot, ka daļiņas ir sfēriskas un bez porām:

$$d_{\text{BET}} = 6/(\rho \cdot \text{SSA}), \quad (1.)$$

kur ρ – R-HAp blīvums (2,81 g/cm³);

SSA – īpatnējais virsmas laukums (noteikts ar BET).

Nanoizmēra karbonāta jonus saturoši kalcija fosfāti (CaPi) ar amorfu vai mazkristālisku struktūru iegūti, izmantojot metodi, kas balstīta uz strauju pH palielināšanu kalcija un fosfāta jonus saturošā šķīdumā un nogulšņu žāvēšanu 80 °C temperatūrā. ACP fāze iegūta pie sintēzes beigu pH vērtībām 10 un 11; savukārt mazkristāliski CaPi iegūti pie sintēzes beigu vērtībām 8 un 9 (4. a att.). Attiecīgo materiālu ķīmisko grupu sastāvam arī novērota atkarība no sintēzes beigu pH (4. b att.) un *XRD* ainās novērotās atšķirības papildināja informācija, kas iegūta, analizējot *FT-IR* spektrus. Visos pētīto paraugu *FT-IR* spektros konstatēta karbonāta jonu grupu klātbūtne. Gan fāžu, gan ķīmisko grupu sastāva analīzes parādīja, ka ACP, kas iegūts ar izstrādāto metodi, ir derīgs žāvēšanai 80 °C temperatūrā, jo, nogulsnēts pie noteikta pH, tas saglabā amorfo fāzi. Iepriekšminētais ieguvums var noderēt ACP sintēzes mērogošanai un vēlākai komercializēšanai, pateicoties ievērojami īsākam apstrādes laikam, jo tradicionāli metastabīlo ACP žāvē ar liofilizēšanas paņēmieni 48–72 h.



4. att. Rentgenstaru difrakcijas ainās (a) un *FT-IR* spektri, kas attēloti 1700–400 cm⁻¹ diapazonā (b) kalcija fosfātiem, kas iegūti dažādos pH un žāvēti 80 °C temperatūrā, un R-HAp references paraugam [14].

Noteikts, ka iegūto kalcija fosfātu SSA ir robežās no 133 m²/g līdz 154 m²/g (1. tab.), kas izpilda definēto mērķi – iegūt ACP ar SSA ≥ 100 m²/g. Savukārt aprēķinātais daļiņu izmērs *d*_{BET} ir robežās no 14 nm līdz 16 nm. Korelācija starp SSA un ACP sintēzes beigu pH netika konstatēta (rezultāti statistiski neatšķīrās).

1. tabula

Iegūto kalcija fosfātu raksturlielumi, kur d_{BET} – daļiņu izmērs, SSA – īpatnējais virsmas laukums [14]

Paraugs	Sintēzes beigu pH	d_{BET} , nm	SSA, m ² /g
ACP-8	8	14 ± 1	154 ± 9
ACP-9	9	15 ± 1	141 ± 8
ACP-10	10	16 ± 3	133 ± 25
ACP-11	11	15 ± 3	150 ± 28
R-HAp	8,8	22 ± 1	95 ± 3

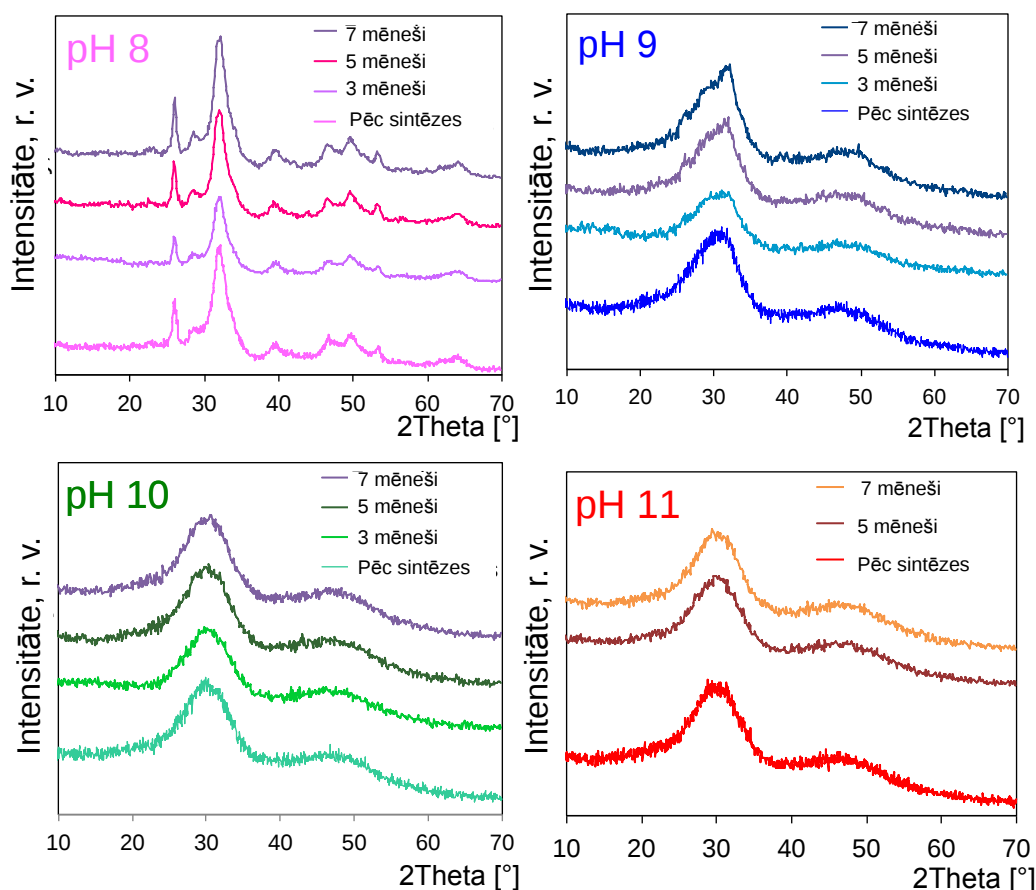
Neatkarīgi no sākotnējās Ca/P molārās attiecības sintēzes šķīdumā (visos gadījumos Ca/P = 1,67) termiski apstrādātu (1100 °C, 1 h) ACP sastāvā konstatēta dažādu fāžu veidošanās: β -TCP (pH = 8 un pH = 9) vai β -TCP/HAp (pH = 10 un pH = 11). Termiski apstrādātu paraugu Ca/P molārās attiecības vērtības redzamas 2. tabulā. Secināts, ka parauga Ca/P molāro attiecību ietekmē sintēzes beigu pH vērtība. Parauga Ca/P molārā attiecība pieaug līdz ar sintēzes beigu pH vērtību. Ca/P molārās attiecības pieaugums skaidrojams ar to, ka termiskās apstrādes laikā karbonāta joni atstāja CaP struktūru. Zināms, ka CaP sintēzēs pH ir viens no noteicošajiem faktoriem konkrēta sastāva produkta iegūšanai, kas apstiprinās arī šajā pētījumā.

2. tabula

Termiski apstrādātu paraugu kristālisko fāžu sastāvs un to Ca/P molārā attiecība [14]

Paraugs	Sintēzes beigu pH	β -TCP, masas %	Hap, masas %	Ca/P molārā attiecība
ACP-8	8	100	–	1,50
ACP-9	9	100	–	1,50
ACP-10	10	95,2 ± 1,5	4,8 ± 1,5	1,51
ACP-11	11	90,3 ± 1,6	9,7 ± 1,6	1,61

Iegūtie CaP paraugi sausā stāvoklī ir stabili vismaz septiņus mēnešus (5. att.), ja to sintēzes beigu pH ir pH = 8, pH = 10 un pH = 11. Ja sintēzes beigu pH ir 9, pēc pieciem mēnešiem sākas kristalizācija pēc iekšējās hidrolīzes mehānisma. Paraugu, kuru sintēzēs beigu pH bija pH = 10 un pH = 11, stabilitāti var izskaidrot ar karbonāta jonu iekļaušanos to struktūrā, tādējādi palielinot to Ca/P molāro attiecību. Līdz ar to karbonātu jonus saturoši ACP materiāli ar paaugstinātu Ca/P molāro attiecību (>1,50) uzrādīja stabilu amorfo fāzi ilgtermiņā.



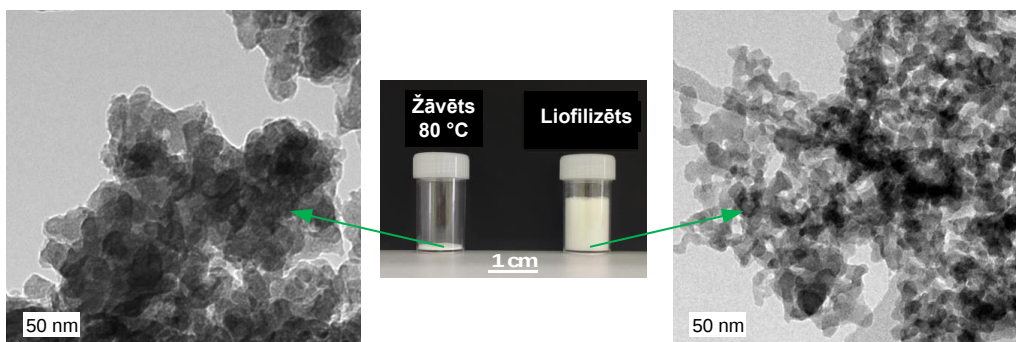
5. att. XRD ainas mazkristāliskiem un amorfiem CaP, kas iegūti dažādos pH un žāvēti 80 °C temperatūrā: uzreiz pēc sintēzes un pēc trim, pieciem un septiņiem mēnešiem [14].

Ar dažādām metodēm žāvētu ACP materiālu termiskās īpašības

Izmantojot izstrādāto sintēzes metodi, ACP iespējams izžāvēt 80 °C temperatūrā (1 h), un šajā gadījumā laikietilpīgā (72 h) liofilizēšanas žāvēšana nav nepieciešama, lai saglabātu amorfo struktūru. Tomēr ar izstrādāto metodi iegūtie CaPi tika izžāvēti arī ar liofilizēšanas paņēmieni, un veikts fizikālķīmisko īpašību salīdzinājums ar 80 °C temperatūrā žāvētiem CaP.

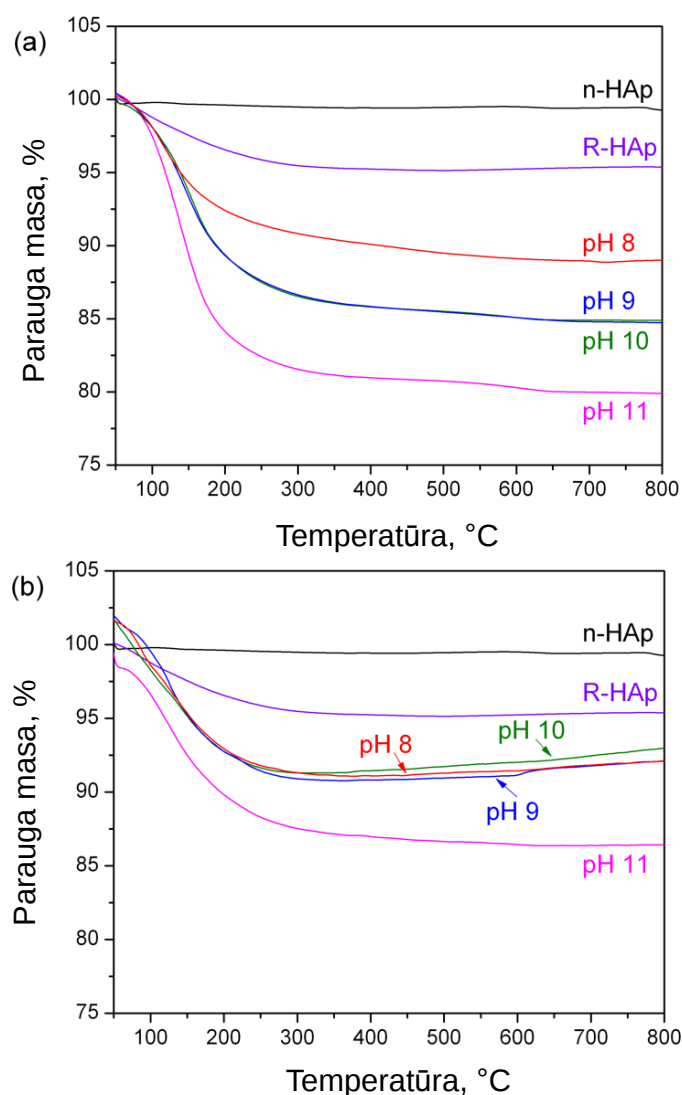
Visi liofilizētie paraugi bija rentgenamorfī neatkarīgi no sintēzes beigu pH vērtības. Tomēr liofilizētie pulveri vizuāli atšķīrās no 80 °C temperatūrā žāvētiem CaP (6. att.), kur brīvi plūstoši un apjomīgi pulveri tika iegūti liofilizēšanas gadījumā un aglomerēti pulveri – žāvējot 80 °C. 80 °C temperatūrā žāvētie paraugi (apzīmējums “Ov”) veidoti no lielāka izmēra daļiņām un aizņēma mazāku tilpumu nekā liofilizētie (apzīmējums “FrD”) paraugi. Apkopojot iepriekšminēto, tika formulēta hipotēze, ka ar dažādām metodēm žāvēts ACP kristalizējas atšķirīgās fāzēs, ko izraisa ar rutīnas analīzes metodēm (piemēram, XRD un FT-IR) neizšķiramas struktūras atšķirības. Iespējamās atšķirības ar dažādām metodēm žāvētiem CaP analizētas to kristalizācijas procesā, izmantojot termogravimetrijas (TGA) un diferenciāli skenējošās kalorimetrijas (DSC) metodes.

DSC-TGA mērījumiem izmantota STA449C Jupiter® (Netzsch, Vācija) iekārta. Salīdzināšanai izmantoti divi paraugi: n-HAp (nanokristālisks HAp, Sigma Aldrich) un R-HAp (iegūts RTU RBIAC), abi satur tikai HAp.



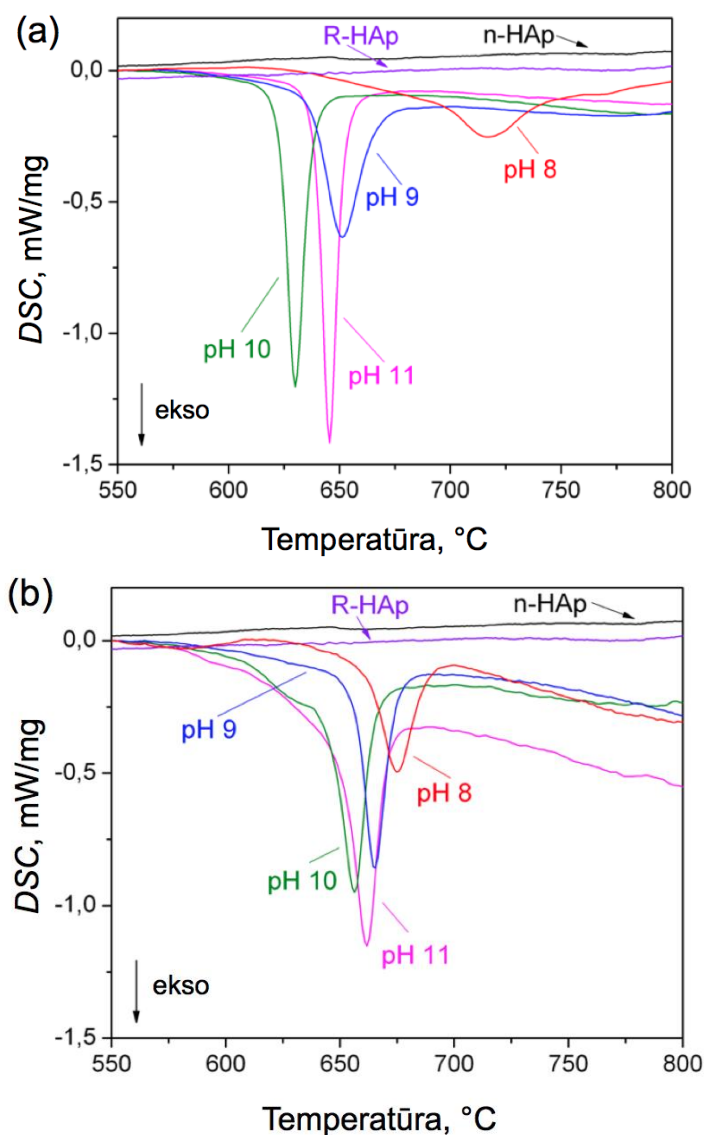
6. att. Fotografijas un TEM attēli žāvēšanas skapī žāvētiem 80 °C (pa kreisi) un liofilizētiem (pa labi) ACP paraugiem ar vienādu svaru [15], sintēzes beigu pH = 10.

Ov un FrD ACP paraugu TGA līknes redzamas 7. attēlā. Novērotie masas zudumi ir pakāpeniski un bez straujām izmaiņām visiem Ov un FrD paraugiem. Savukārt kopējā masas zuduma vērtība paraugiem, kas iegūti sintēzēs ar dažādu sintēzes beigu pH vērtību, atšķiras, piemēram, skat. masas zudumus 800 °C temperatūrā.



7. att. TGA līknes (a) 80 °C temperatūrā žāvētiem un (b) liofilizētiem ACP paraugiem temperatūru diapazonā no 50 °C līdz 800 °C; n-HAp un R-HAp ir references paraugi [15].

Abu žāvēšanas metožu salīdzinājumā konstatēts, ka *Ov* paraugi satur lielāku daudzumu fizikāli adsorbētā ūdens, kas izzūd līdz 200 °C temperatūrai (7. att.). Tas pats novērojums attiecas arī uz kopējo masas zudumu, kas noteikts pie 1200 °C. Kopējais masas zudums *Ov* paraugiem bija diapazonā no 11 masas % līdz 20 masas %, kur lielāki masas zudumi bija *Ov* paraugiem, kas iegūti pie augstāka sintēzes beigu pH. Savukārt *FrD* paraugu kopējo masas zudumu lielākā noteiktā vērtība bija 14 masas % paraugam, kas iegūts pie pH = 11. *FrD* paraugiem, kas iegūti pie pH = 8–10, kopējo masas zudumu vērtības bija līdzīgas un sintēzes beigu pH ietekme netika novērota.



8. att. DSC līknes (a) 80 °C temperatūrā žāvētiem un (b) liofilizētiem ACP paraugiem temperatūru diapazonā no 550 °C līdz 800 °C; n-HAp un R-HAp ir references paraugi [15].

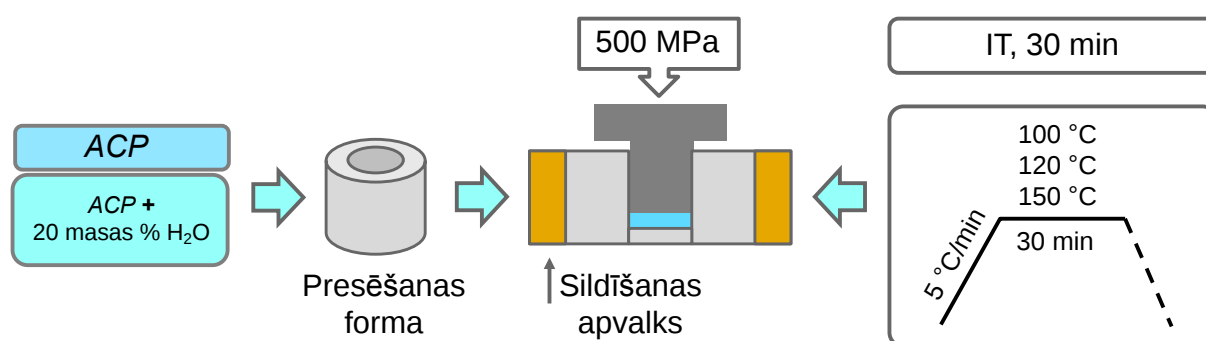
Visu *Ov* un *FrD* paraugu DSC līknēs novēroti eksotermiski kristalizēšanās efekti (8. att.). Šo efektu temperatūru diapazonā no 630 °C līdz 720 °C ACP pārveidojās kristāliskos CaP, ar dominējošo fāzi β -TCP. Pētīto ACP materiālu $T_{\text{krist.sāk.}}$ bija diapazonā no 600 °C līdz 650 °C; korelāciju starp kristalizācijas temperatūrām ($T_{\text{krist.sāk.}}$ un $T_{\text{krist.beigu}}$) un žāvēšanas metodēm vai sintēzes pH nenovēroja. TGA un DSC līkņu analīze norādīja, ka termiski ierosināta ACP

kristalizācija nav saistīta ar vienlaicīgu masas zudumu. ACP kristalizācija sākās par 150–200 °C augstākā temperatūrā nekā TGA līknē novērotais straujākais masas zudums (līdz 400 °C).

ACP sablīvēšana, izmantojot aukstās saķepināšanas procesa principus

Kaulam piemīt ne tikai unikāls fāžu un ķīmiskais sastāvs, bet arī unikāla fizikālā struktūra, kas veidota gan no blīviem, gan porainiem kaula apgabaliem. Līdz šim joprojām nav izdevies saķepināt ACP biokeramiku ar augstu relatīvo blīvumu, neietekmējot tā amorfo un hidratēto struktūru un īpašības. ACP sablīvēšanai ir izmantotas alternatīvas saķepināšanas metodes, piemēram, hidrotermiskā karstā presēšana un zemas temperatūras dzirksteles plazmas saķepināšana. Tomēr, pat izmantojot šīs tehnoloģijas, ACP sablīvēšana ir apgrūtināša. Nesen dažādu pulveru saķepināšanai zemā temperatūrā (≤ 300 °C) sākts izmantot aukstās saķepināšanas process CSP (angļu val. – *cold sintering process*). Lai sablīvētu pulveri, izmantojot CSP, izmanto pārejas šķīdumu, uniaksiālu spiedienu un karstumu. Līdz ar to šī promocijas darba ietvaros pētīts CSP metodes lietojums ACP sablīvēšanai.

Lai noskaidrotu optimālos CSP tehnoloģiskos parametrus blīvas ACP biokeramikas iegūšanai, variēti šādi tehnoloģiskie parametri: 1) pārejas šķīduma (ūdens, 20 masas %) esamība vai neesamība; 2) saķepināšanas temperatūra (istabas temperatūra, 100 °C, 120 °C un 150 °C). Katrā CSP eksperimentā 0,5 g iepriekš sagatavota ACP pulvera (žāvēts 80 °C, 24 h) ievietoti viegli izjaucamā presēšanas formā (ID = 13 mm, Across International, ASV). Izmantots ACP ar augstu SSA, kas sintezēts saskaņā ar iepriekš izstrādāto sintēzes protokolu [14] un žāvēts, izmantojot liofilizēšanas paņēmieni. ACP pulvera samitrināšana veikta manuāli, izmantojot ahāta piestu un piestalu. CSP process veikts ar divu kolonnu laboratorijas presi PW 40 (P/O/WEBER, Vācija), presējot uniaksiāli ar 500 MPa spiedienu. Katrs paraugs izgatavots vismaz trīs paralēlos atkārtojumos. CSP eksperimentālo apstākļu kopsavilkums redzams 9. attēlā.

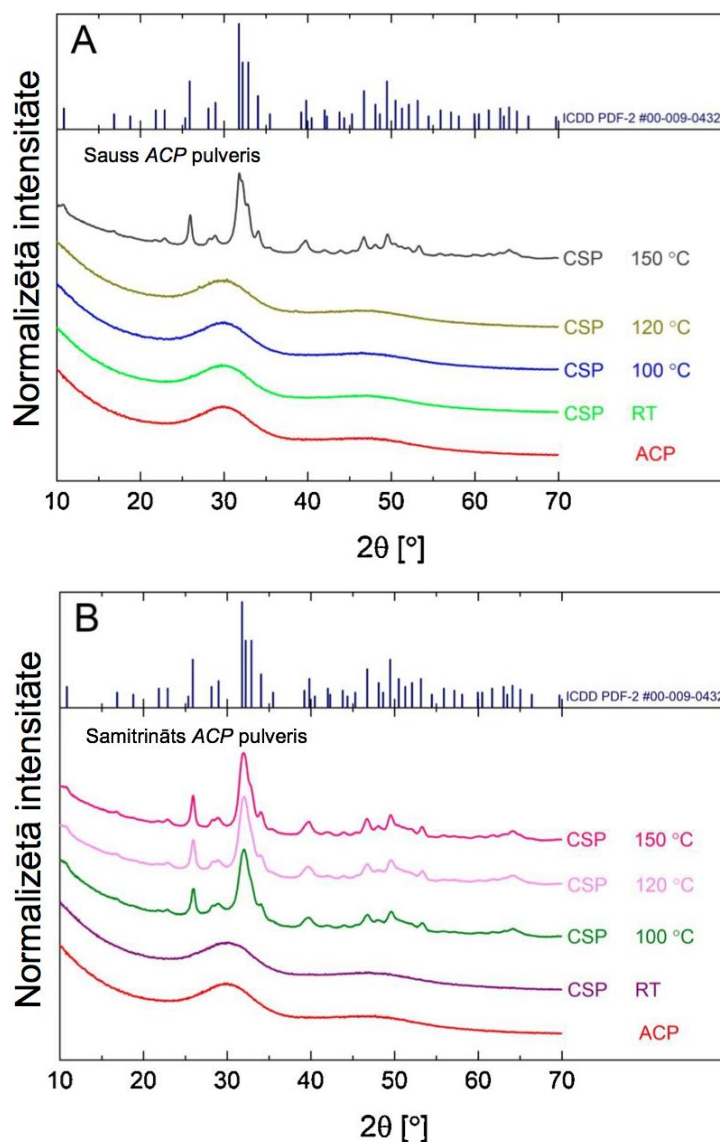


9. att. ACP sablīvēšana, izmantojot CSP principus, kur IT – istabas temperatūra.

Sintezētais ACP pulveris un ar CSP saķepinātie paraugi analizēti ar XRD (*X'Pert Pro*, *PAnalytical*, Nīderlande) un BET (*Quadratorb SI*, *Quantachrome*, ASV) metodēm, lai noteiktu to fāžu sastāvu un SSA. Lai novērtētu CSP ietekmi uz paraugu sablīvēšanos, noteiktas paraugu šķietamā un relatīvā blīvuma vērtības, izmantojot hēlija piknometru *Micro UltraPyc 1200e* (*Quantachrome Instruments*, ASV). Pirms mērījumiem CSP saķepinātie

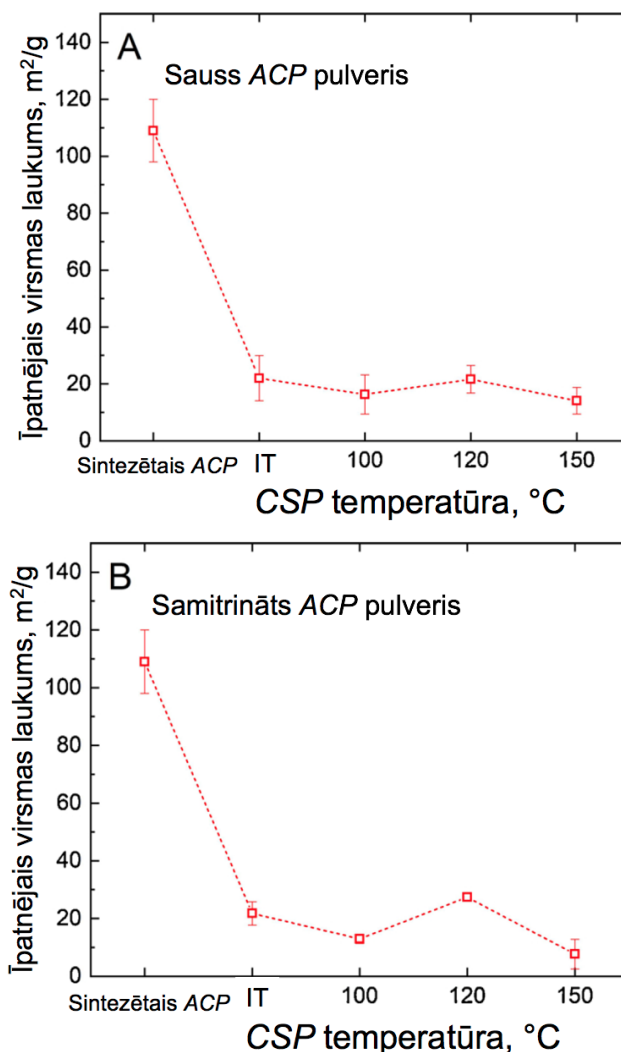
paraugi tika žāvēti (80 °C, 24 h) un samalti smalkā pulverī, izmantojot *Mini-Mill Pulverisette 23* (*FRITCH*, Vācija) vienas bumbas dzirnavas (3 min).

CSP ietekme uz *ACP* fāzes stabilitāti novērtēta, izmantojot *XRD* (10. att.). Pārejas šķīduma klātbūtne (ūdens, 20 masas %) veicināja *ACP* kristalizāciju nanokristāliska *HAp* fāzē. Kristalizācija notika zemākās temperatūrās (kristalizējās 100 °C), salīdzinot ar sausu *ACP* pulveri (kristalizējās 150 °C). Gan temperatūra, gan spiediens varēja aktivēt virsmas difūzijas procesus, kas veicināja fāžu pāreju no *ACP* uz nanokristālisku *HAp*.



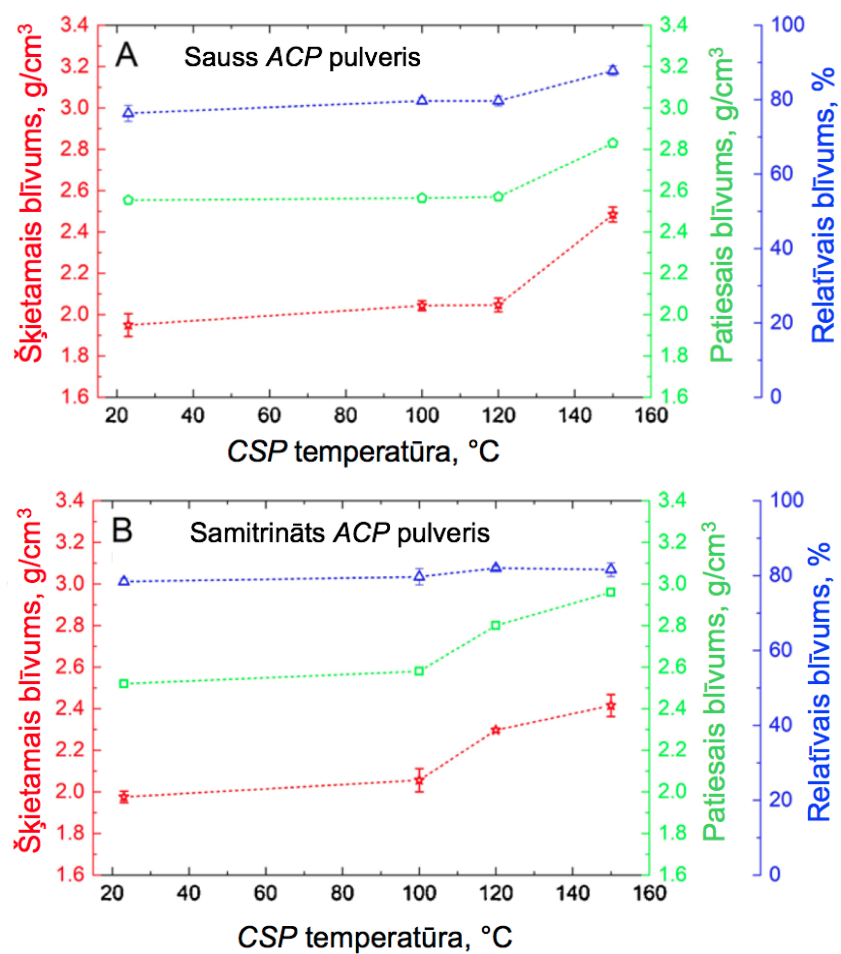
10. att. *XRD* ainas *ACP* pulverim un ar *CSP* saķepinātiem paraugiem, kas izgatavoti no sausa (A) un no samitrināta (B) *ACP* pulvera [16].

Ar CSP saķepinātu paraugu SSA samazinājās aptuveni piecas reizes (11. att.), salīdzinot ar sintezētā ACP pulvera SSA ($109 \text{ m}^2/\text{g} \pm 11 \text{ m}^2/\text{g}$). Konstatētais SSA samazinājums liecina par daļiņu saplūšanu CSP laikā. Turklāt nepilnīga sablīvēšanās izveido starpdaļiņu (slēgto) porainību ar virsmu, kas ir nepieejama BET mērījumos izmantotajai slāpekļa gāzei.



11. att. Īpatnējais virsmas laukums ACP pulverim un ar CSP saķepinātiem paraugiem, kas izgatavoti no sausa (A) un no samitrināta (B) ACP pulvera [16].

Izmantojot CSP principus, mērens, uniaksiāli lietots 500 MPa spiediens istabas temperatūrā nodrošināja ACP saķepināšanu līdz relatīvi augstam blīvumam (12. att.). Saķepināšanas temperatūras palielināšanai bija neliela ietekme uz paraugu, kas bija saglabājis amorfu struktūru pēc CSP, blīvuma vērtībām (10. att.). Secināms, ka zemās CSP saķepināšanas temperatūras nebija pietiekamas, lai uzlabotu sablīvēšanos caur difūzijas procesiem. Literatūrā atrodamā augstākā relatīvā blīvuma vērtība ACP keramikai ir ~45 % [17]. Šajā pētījumā ar CSP saķepinātas ACP keramikas relatīvais blīvums sasniedza vairāk nekā 75 %.



12. att. Šķietamais, patiesais un relatīvais blīvums ar CSP saķepinātiem paraugiem, kas izgatavoti no sausa (A) un no samitrināta (B) ACP pulvera [16].

SECINĀJUMI

1. Sintezējot amorfo kalcija fosfātu ar dubultās sāļu sadalīšanas metodi no $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ un $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ un variējot izejvielu Ca/P molāro attiecību (1,5, 1,67 vai 2,2) un sintēzes temperatūru (0 °C vai 20 °C), būtisks īpatnējā virsmas laukuma palielinājums nav konstatēts, kā arī izejvielu Ca/P molārā attiecība neietekmē iegūtā amorfā kalcija fosfāta Ca/P molāro attiecību.
2. Ir izstrādāta vienkārša, ātra un rentabla sintēzes metode amorfū vai daļēji kristālisku kalcija fosfātu iegūšanai ar lielu īpatnējo virsmas laukumu ($\geq 100 \text{ m}^2/\text{g}$), kas balstīta uz strauju pH vērtības paaugstināšanu sintēzes vidē, kas satur gan kalcija, gan fosfāta jonus.
3. Amorfa kalcija fosfāta izgulsnēšanas pH (8–11) un žāvēšanas metode (liofilizēšana vai žāvēšana 80 °C temperatūrā) termiskās apstrādes laikā neietekmē amorfā kalcija fosfāta kristalizācijas temperatūru, kas novērojama no 600 °C līdz 650 °C, bet ietekmē ar ūdens zaudēšanu saistītos masas zudumus.
4. Amorfa kalcija fosfāta materiāliem ar paaugstinātu Ca/P molāro attiecību ($>1,50$), tos uzglabājot istabas temperatūrā, piemīt ilgtermiņa stabilitāte.
5. Izmantojot aukstās saķepināšanas procesa principus, ir iespējams iegūt blīvu amorfa kalcija fosfāta keramiku ļoti zemās temperatūrās (istabas, 100 °C un 120 °C), presējot uniaksiāli 500 MPa spiedienā.

ATSAUCES

- [1] K. Pawelec, J. A. Planell, *Bone Repair Biomaterials: Regeneration and Clinical Applications*, 2.izd. Woodhead Publishing, 2018.
- [2] A. Tsetsekou, D. Brasinika, V. Vaou, E. Chatzitheodoridis, "On the synthesis of tailored biomimetic hydroxyapatite nanoplates through a bioinspired approach in the presence of collagen or chitosan and L-arginine.," *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.*, vol. 43, pp. 555–65, Oct. 2014.
- [3] M. J. Olszta *et al.*, "Bone structure and formation: A new perspective," *Mater. Sci. Eng. R Reports*, vol. 58, no. 3–5, pp. 77–116, 2007.
- [4] S. Bose, S. Tarafder, "Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering: a review," *Acta Biomater.*, vol. 8, no. 4, pp. 1401–21, 2012.
- [5] H.-S. Sohn, J.-K. Oh, "Review of bone graft and bone substitutes with an emphasis on fracture surgeries," *Biomater. Res.*, vol. 23, no. 1, p. 9, Dec. 2019.
- [6] D. S. H. Lee, Y. Pai, S. Chang, "Physicochemical characterization of InterOss® and Bio-Oss® anorganic bovine bone grafting material for oral surgery – A comparative study," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 146, no. 1–2, pp. 99–104, Jul. 2014.
- [7] J. Kolmas, A. Ślósarczyk, A. Wojtowicz, W. Kolodziejski, "Estimation of the specific surface area of apatites in human mineralized tissues using 31P MAS NMR," *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, vol. 32, no. 2, pp. 53–58, 2007.
- [8] R. Duan *et al.*, "Variation of the bone forming ability with the physicochemical properties of calcium phosphate bone substitutes," *Biomater. Sci.*, vol. 6, no. 1, pp. 136–145, 2018.
- [9] D. Xiao *et al.*, "The role of calcium phosphate surface structure in osteogenesis and the mechanisms involved," *Acta Biomater.*, vol. 106, pp. 22–33, Apr. 2020.
- [10] J. Mahamid, A. Sharir, L. Addadi, S. Weiner, "Amorphous calcium phosphate is a major component of the forming fin bones of zebrafish: Indications for an amorphous precursor phase," *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, vol. 105, no. 35, pp. 12748–12753, 2008.
- [11] R. Gelli, F. Ridi, P. Baglioni, "The importance of being amorphous: calcium and magnesium phosphates in the human body," *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 269, pp. 219–235, 2019.
- [12] J. Vecstaudza, J. Locs, "Effect of Synthesis Temperature and Ca/P Ratios on Specific Surface Area of Amorphous Calcium Phosphate," *Key Eng. Mater.*, vol. 721, pp. 172–176, 2016.
- [13] E. D. Eanes, "Amorphous Calcium Phosphate: Thermodynamic and Kinetic Considerations," in *Calcium Phosphates in Biological and Industrial Systems*, Boston, MA: Springer US, 1998, pp. 21–39.
- [14] J. Vecstaudza, J. Locs, "Novel preparation route of stable amorphous calcium phosphate nanoparticles with high specific surface area," *J. Alloys Compd.*, vol. 700, pp. 215–222, 2017.
- [15] J. Vecstaudza, M. Gasik, J. Locs, "Amorphous calcium phosphate materials: Formation, structure and thermal behaviour," *J. Eur. Ceram. Soc.*, Nov. 2018.
- [16] K. Rubenis, S. Zemjane, J. Vecstaudza, J. Bitenies, J. Locs, "Densification of amorphous calcium phosphate using principles of the cold sintering process," *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 41, no. 1, pp. 912–919, 2021.
- [17] M. Luginina *et al.*, "First successful stabilization of consolidated amorphous calcium phosphate (ACP) by cold sintering: toward highly-resorbable reactive bioceramics," *J. Mater. Chem. B*, vol. 8, no. 4, pp. 629–635, 2020.